

荧光偏振法测定芘与富勒酸的结合常数

张 勇¹, 朱 亚 先², Michael H W Lam³, Ka Fai Poon³, 黄 贤 智²,
Rudolf S S Wu³

(1. 厦门大学环境科学研究中心, 福建 厦门 361005; 2. 厦门大学化学系, 福建 厦门 361005; 3. 香港城市大学生物和化学系, 九龙塘 香港)

摘要: 建立了用荧光偏振法研究芘和富勒酸之间的相互作用的方法. 结果表明, 芘和富勒酸之间的相互作用强烈. 本方法的一个优点是不经分离既可测定荧光物的结合常数.

关键词: 荧光偏振法; 芘; 富勒酸

中图分类号: O65

文献标识码: A

疏水性有机污染物在水环境中的迁移、转化和这类污染物的生物有效性以及其所造成的生态毒理效应, 与水环境中的多种因素有关. 其中有机污染物的表观溶解度直接影响着这类污染物的环境行为和其毒性. 已有的研究表明, 溶解态有机物(腐植酸、富勒酸)对这类有机污染物的溶解度有显著的影响.

多环芳烃(PAHs)类化合物因其“三致”作用, 倍受环境科学工作者的重视. 其中研究 PAHs 化合物与腐植酸、富勒酸相互作用, 对研究 PAHs 在水环境中的迁移、转化, 寻找有效的治理或消除这类化合物的毒性效应的方法十分有意义. 本文用荧光偏振法研究了芘与富勒酸之间的相互作用.

1 实验部分

1) 试剂. 富勒酸水溶液, 将一定量的富勒酸溶解在 Milli-Q 水中, 配成溶液; 芘标准溶液: 将一定量的固体芘溶解在乙醇中, 配成 6.0ppm 储备液, 使用时, 将其用甲醇稀释成工作液; 缓冲溶液: pH= 2; pH= 7 和 pH= 11 的磷酸盐溶液, 缓冲溶液的浓度分别 40% 甘油介质中 0.06mol/dm^3 和 75% 甘油介质中 0.025mol/dm^3 .

2) 仪器. 日立 850 型荧光分光光度计, 仪器的激发和发射狭缝均为 10nm.

3) 实验方法. 将一定量的芘标准溶液和一定量的缓冲溶液混合后放入 1cm 的石英荧光液池中, 按照仪器提示经 G 因子校正后, 测定各浓度下被测体系的荧光偏振度 P .

2 结果与讨论

2.1 酸度的影响

在被测体系中加入富勒酸后, 体系的偏振度均随着富勒酸用量的增加而增大. 然而, 芘的荧光强度却没有因为富勒酸的加入而降低. 在 pH= 2 时, 当富勒酸的浓度增大到 4.0×10^{-6}

收稿日期: 1999- 06- 07

作者简介: 张勇 (1962-), 男, 副教授, 博士.

时, 被测体系的荧光偏振度的变化趋于平缓; 在 $\text{pH} = 7$ 和 $\text{pH} = 11$ 时, 被测体系荧光偏振度变化分别在富勒酸浓度增大到 2.0×10^{-6} 和 4.0×10^{-6} 时趋于平缓。

2.2 茈和富勒酸的结合

据荧光偏振法原理, 当其它条件均固定时(如温度、粘度、被测物分子体积), 所研究体系荧光偏振度的变化只能是茈和富勒酸的键合程度的反映。同时随着富勒酸的加入, 茈的荧光偏振度的变化与所加富勒酸的量呈线性关系, 说明茈和富勒酸的化学计量比为 1:1。

2.3 茈和富勒酸的结合常数

如假设 F_b 、 F_f 分别表示键合和游离态的荧光体的荧光强度; Q_b 、 Q_f 分别表示键合和游离态的荧光体的荧光效率; P_b 、 P_f 和 P 分别表示键合、游离态和测得的荧光体的表观荧光偏振度, 则有方程:

$$F_b/F_f = Q_b (P - P_f) / Q_f (P_b - P) \quad (1)$$

因富勒酸的加入, 并未改变茈的荧光强度, 所以 $Q_b = Q_f$, 则:

$$K_f = \frac{[P_{\text{perylene}} - \text{SFA}]}{[P_{\text{perylene}}]} [\text{SFA}] = \frac{(P - P_f)}{(P_b - P)} \left[c_{\text{SFA}} - \frac{(P - P_f)}{(P_b - P_f)} c_{\text{perylene}} \right] \quad (2)$$

其中: c_{SFA} 、 c_{perylene} 分别表示富勒酸、茈的总浓度。

由方程(2)求得 $\text{pH} = 2$ 时, $\text{pH} = 7$ 时, $\text{pH} = 11$ 时富勒酸、茈的键合常数分别为: 1.2×10^6 、 1.8×10^6 、 1.5×10^6 。上述结果表明富勒酸、茈的键合很强。

3 结论

该方法的特点是无须分离而直接用于样品的测定。该方法的不足之处是, 要处理实际样品时, 一定要清楚样品中无其他淬灭因素。

Determination of Perylene and Fulvic Acid Binding Constants with Fluorescence Polarization

ZHANG Yong¹, ZHU Ya-xian², Michael H W Lam³, Ka-Fai Poon³, HUANG Xian-zhi², Rudolf S S Wu³

(1. Environment Science Research Center, Ecol. Xiamen University, Fujian Xiamen 361005, China; 2. Department of Chem. Xiamen University, Fujian Xiamen 361005, China; 3. Department of Bio and Chem, City University of Hong Kong, Hong Kong, China)

Abstract: A fluorescence polarization method has been developed for determination of binding constant of perylene with dissolved fulvic acid. The results of the experiment show that the interaction between perylene and fulvic Acid is strong. The great advantage of this method is that the binding constant of some kinds of fluorephors in a sample can be measured without separation.

Keywords: fluorescence polarization method; perylene; fulvic acid